

分类号: Q819  
学号: 20232106037

密级:  
单位代码: 10759

# 石河子大学

## 硕士学位论文



### 紫花苜蓿 DUF1644 全基因组鉴定及耐盐机制的研究

学位申请人	蒋广智
指导教师	谢全亮 教授 李鸿彬 教授
申请学位类别	专业硕士
专业名称	生物与医药
研究领域	生物技术与工程
所在学院	生命科学学院

中国·新疆·石河子

2026年5月

分类号: Q819  
学号: 20232106037

密级:  
单位代码: 10759

# 石河子大学

## 硕士学位论文



### 紫花苜蓿 DUF1644 全基因组鉴定及耐盐机制的研究

学位申请人	蒋广智
指导教师	谢全亮 教授 李鸿彬 教授
申请学位类别	专业硕士
专业名称	生物与医药
研究领域	生物技术与工程
所在学院	生命科学学院

中国·新疆·石河子

2026年5月

**Genome-wide Identification of the DUF1644 Gene Family in Alfalfa  
and Its Potential Mechanism in Salt Tolerance**

A Dissertation Submitted to

**Shihezi University**

In Partial Fulfillment of the Requirements

for the Degree of

**Professional Master**

By

**Jiang Guang-zhi**

**(Biotechnology and Engineering)**

Dissertation Supervisor: Prof. Xie Quan-liang, Prof. Li Hong-bin

May, 2026

# 石河子大学学位论文独创性声明及使用授权声明

## 学位论文独创性声明

本人所呈交的学位论文是在我导师的指导下进行的研究工作及取得的研究成果。据我所知，除文中已经注明引用的内容外，本论文不包含其他个人已经发表或撰写过的研究成果。对本文的研究做出重要贡献的个人和集体，均已在文中作了明确的说明并表示谢意。

研究生签名：蒋广智

时间：2026年5月18日

## 使用授权声明

本人完全了解石河子大学有关保留、使用学位论文的规定，学校有权保留学位论文并向国家主管部门或指定机构送交论文的电子版和纸质版。有权将学位论文在学校图书馆保存并允许被查阅。有权自行或许可他人将学位论文编入有关数据库提供检索服务。有权将学位论文的标题和摘要汇编出版。保密的学位论文在解密后适用本规定。

研究生签名：蒋广智

时间：2026年5月18日

导师签名：孙玲亮

时间：2026年5月18日

## 摘要

目的：紫花苜蓿 (*Medicago sativa* L.) 是一种重要的优质豆科类牧草，在国内外畜牧业发展以及生态修复中具有重作用。当前，土壤盐渍化问题已成为限制牧草其生长发育和产量提升的主要环境因素之一。DUF1644 为一类植物特有且高度保守的蛋白家族，参与植物非生物胁迫响应，但其具体的分子调控机制尚不明确。本研究以“新疆大叶”紫花苜蓿为研究材料，系统鉴定 DUF1644 基因家族，并以 *MsDUF1644-1* 为重点研究对象，深入解析其在盐胁迫响应中的生物学功能及潜在分子机制。

方法：基于紫花苜蓿参考基因组数据，采用生物信息学方法鉴定 DUF1644 基因家族成员，并分析其系统发育关系、基因结构与保守基序、染色体定位及共线性特征，结合顺式作用元件和表达模式分析，初步评估 *MsDUF1644* 潜在功能。克隆 *MsDUF1644-1* 启动子及编码序列，分别构建 *pMsDUF1644-1::GUS* 和荧光蛋白融合表达载体，通过转基因拟南芥及烟草瞬时表达系统分析启动子活性及亚细胞定位。进一步构建过表达和 RNAi 干扰载体，在酵母、拟南芥和紫花苜蓿中验证其生物学功能。最后，采用酵母双杂交筛选互作蛋白，并结合荧光素酶互补 (LCI)、GST pull-down 和免疫共沉淀 (Co-IP) 等实验验证蛋白互作关系。

结果：(1) 本研究在紫花苜蓿基因组中共鉴定出 23 个 DUF1644 家族成员，该家族在豆科植物中具有较高保守性，成员扩张主要依赖于全基因及片段复制。启动子分析表明，*MsDUF1644s* 富含大量激素及胁迫响应相关元件，部分成员在不同组织与逆境处理下，表达水平有显著差异，表明其可能参与胁迫应答与生长发育调控。

(2) 本研究克隆了 *MsDUF1644-1* 启动子，且验证其在正常条件下具有较低活性，但该启动子受 150 mmol/L NaCl 诱导后表达水平明显增强，说明该基因具有明显盐诱导表达特征。亚细胞定位结果显示，*MsDUF1644-1* 蛋白主要定位于细胞核，并可进一步扩展至质膜和细胞质区域。

(3) 通过酵母异源表达、拟南芥过表达、紫花苜蓿过表达与 RNAi 转基因材料的表型分析，*MsDUF1644-1* 均表现出降低植株耐盐性的作用。其中，RNAi 材料在盐胁迫下具有更高的脯氨酸含量及 SOD、CAT 和 POD 抗氧化酶活性，更低的 MDA 积累，并且可以有效地延缓叶绿素降解，这些表型和指标测定结果，说明该基因可能负向调控植物对盐胁迫的耐受性。

(4) 本研究通过酵母双杂交系统筛选，获得与 *MsDUF1644-1* 互作的蛋白 *MsGRXC11*，并结合荧光素酶互补、GST Pull-down 和免疫共沉淀实验，证实二者之间存在特异互作。

结论：本研究系统解析了紫花苜蓿 DUF1644 基因家族的基本特征，明确 *MsDUF1644-1* 在盐胁迫响应中的负调控作用。结果表明，*MsDUF1644-1* 很可能通过与 *MsGRXC11* 互作，进而影响植株对盐胁迫的适应能力。本研究为揭示紫花苜蓿逆境响应分子机制及挖掘牧草抗逆基因提供了理论依据。

**关键词：**紫花苜蓿；DUF1644；盐胁迫；功能分析；非生物胁迫

## Abstract

**Object:** Alfalfa (*Medicago sativa* L.) is an important, high-quality leguminous forage crop that plays a significant role in livestock farming and ecological restoration globally. Currently, soil salinisation has become one of the major environmental factors limiting the growth, development and yield of forage crops. DUF1644 is a plant-specific and highly conserved protein family involved in plant responses to abiotic stress; however, its specific molecular regulatory mechanisms remain unclear. In this study, ‘XinJiangDaYe’ alfalfa was used as the experimental material to characterise the *DUF1644* gene family systematically. Furthermore, *MsDUF1644-1* was selected as the primary target to elucidate its biological function and underlying molecular mechanisms in response to salt stress.

**Methods:** Based on the alfalfa genomic data, *DUF1644* family members were identified using bioinformatics approaches. Their phylogenetic relationships, gene structures, conserved motifs, chromosomal distribution, and collinearity were analyzed. Combined with cis-acting element prediction and expression profiling, the potential functions of *MsDUF1644* genes were preliminarily evaluated. The promoter and coding sequence of *MsDUF1644-1* were cloned to construct *pMsDUF1644-1::GUS* and fluorescent protein fusion vectors. Promoter activity and subcellular localization were analyzed using transgenic *Arabidopsis* and transient expression in tobacco. Overexpression and RNAi vectors were further constructed, and their biological functions were validated in yeast, *Arabidopsis*, and alfalfa. Finally, interacting proteins were screened by yeast two-hybrid assays and verified by luciferase complementation imaging (LCI), GST pull-down, and co-immunoprecipitation (Co-IP) assays.

**Results:** (1) A total of 23 *DUF1644* family members were identified in alfalfa. This family is highly conserved in legume species, and its expansion is mainly associated with whole-genome duplication and segmental duplication events. Promoter analysis revealed that *MsDUF1644* genes are enriched with hormone- and stress-responsive cis-elements. Expression profiling indicated that some members exhibited significant differential expression across tissues and stress conditions, suggesting their involvement in stress responses and growth regulation.

(2) The promoter of *MsDUF1644-1* was cloned and characterized in our study. The promoter activity was relatively low under normal conditions but was significantly induced by 150 mmol/L NaCl treatment, indicating that this gene is salt-inducible. Subcellular localization analysis showed that *MsDUF1644-1* protein is mainly localized in the nucleus, with additional distribution in the plasma membrane and cytoplasm.

(3) Functional analyses in yeast, transgenic *Arabidopsis*, and alfalfa overexpression and RNAi lines

demonstrated that *MsDUF1644-1* negatively regulates salt tolerance. RNAi lines exhibited higher proline accumulation, enhanced activities of antioxidant enzymes (SOD, CAT, and POD), reduced MDA content, and delayed chlorophyll degradation under salt stress. The results of these phenotypic and physiological measurements indicate that *MsDUF1644-1* acts as a negative regulator in plant salt stress tolerance.

(4) Yeast two-hybrid screening identified MsGRXC11 as an interacting protein of MsDUF1644-1. The interaction between MsDUF1644-1 and MsGRXC11 was further confirmed by LCI, GST pull-down, and Co-IP assays.

Conclusion: This study systematically characterized the *DUF1644* gene family in alfalfa and demonstrated that *MsDUF1644-1* functions as a negative regulator in salt stress response. The results suggest that MsDUF1644-1 may modulate plant adaptation to salt stress through interaction with MsGRXC11. These findings provide a theoretical basis for elucidating the molecular mechanisms of stress responses in alfalfa and for identifying candidate genes for improving stress tolerance in forage crops.

**Key words:** alfalfa (*Medicago sativa* L.); DUF1644; salt stress; functional analysis; abiotic stress

# 目录

摘要.....	I
Abstract .....	II
目录.....	IV
中英符号缩略词表.....	VII
第 1 章 引言.....	1
1.1 盐渍土问题现状与修复措施.....	1
1.1.1 土壤盐渍化现状.....	1
1.1.2 盐渍土的修复.....	2
1.2 盐胁迫下植物的抗氧化防御机制.....	2
1.2.1 盐胁迫信号的感知.....	2
1.2.2 植物抗氧化防御系统.....	4
1.2.3 GSH-AsA 循环与 GRX/TRX 氧化还原系统.....	4
1.2.4 GRX 介导的信号转导 .....	5
1.3 紫花苜蓿抗盐机制的研究进展.....	6
1.4 植物 DUF1644 研究进展.....	6
1.5 研究目的及意义.....	7
1.6 技术路线.....	8
第 2 章 紫花苜蓿 <i>DUF1644</i> 基因家族生物信息学与表达分析.....	9
2.1 材料与方法.....	9
2.1.1 实验材料.....	9
2.1.2 实验方法.....	9
2.2 结果与分析.....	12
2.2.1 紫花苜蓿 <i>DUF1644</i> 基因全基因组鉴定及理化性质分析.....	12
2.2.2 系统发育分析与亚家族分类.....	13
2.2.3 保守基序、结构域与基因结构分析.....	14
2.2.4 染色体定位与共线性分析.....	16
2.2.5 启动子区顺式作用元件分析.....	17
2.2.6 不同组织及处理条件下的基因表达模式.....	18
第 3 章 紫花苜蓿 <i>DUF1644-1</i> 启动子克隆与定位分析 .....	21

3.1 材料与amp;方法.....	21
3.1.1 实验材料.....	21
3.1.2 实验方法.....	21
3.2 结果与分析.....	26
3.2.1 紫花苜蓿基因组 DNA 的提取.....	26
3.2.2 <i>MsDUF1644-1</i> 启动子克隆与载体构建.....	27
3.2.3 <i>pMsDUF1644-1::GUS</i> 转基因拟南芥的获得与鉴定.....	28
3.2.4 <i>pMsDUF1644-1::GUS</i> 转基因拟南芥 GUS 染色分析.....	29
3.2.5 <i>MsDUF1644-1</i> 在烟草中的亚细胞定位.....	30
第 4 章 <i>MsDUF1644-1</i> 功能分析.....	32
4.1 材料与amp;方法.....	32
4.1.1 实验材料.....	32
4.1.2 实验方法.....	32
4.2 结果与分析.....	37
4.2.1 <i>MsDUF1644-1</i> 植物表达载体构建.....	37
4.2.2 <i>MsDUF1644-1</i> 植物 RNAi 载体构建.....	39
4.2.3 <i>MsDUF1644-1</i> 在酵母表达中的功能验证.....	40
4.2.4 <i>MsDUF1644-1</i> 在拟南芥中的功能验证.....	41
4.2.5 紫花苜蓿的遗传转化.....	43
4.2.6 <i>MsDUF1644-1</i> 在紫花苜蓿中的功能验证.....	45
第 5 章 <i>MsDUF1644-1</i> 互作蛋白的筛选与验证.....	48
5.1 材料与amp;方法.....	48
5.1.1 实验材料.....	48
5.1.2 实验方法.....	49
5.2 结果与分析.....	53
5.2.1 <i>MsDUF1644-1</i> 诱饵载体自激活检测.....	53
5.2.2 酵母双杂交筛库及候选互作蛋白鉴定.....	53
5.2.3 酵母双杂交验证 <i>MsDUF1644-1</i> 与 <i>MsGRXC11</i> 互作.....	54
5.2.4 LCI 验证 <i>MsDUF1644-1</i> 与 <i>MsGRXC11</i> 互作.....	56
5.2.5 GST Pull-down 验证 <i>MsDUF1644-1</i> 与 <i>MsGRXC11</i> 体外互作.....	57
5.2.6 Co-IP 验证 <i>MsDUF1644-1</i> 与 <i>MsGRXC11</i> 体内互作.....	58
第 6 章 讨论.....	60
第 7 章 结论与展望.....	63
7.1 结论.....	63

7.2 展望.....	64
参考文献.....	65
附录.....	71
致谢.....	82
作者简介.....	83
导师评阅表.....	错误!未定义书签。

## 中英符号缩略词表

英文缩写	英文全称	中文名称
2,4-D	2,4-dichlorophenoxyacetic acid	2,4-二氯苯氧乙酸
3-AT	3-Amino-1,2,4-Triazole	3-氨基-1,2,4-三唑
ABA	Abscisic acid	脱落酸
Anti	Antibody	抗体
AS	Acetosyringone	乙酰丁香酮
cDNA	Complementary DNA	互补 DNA
CDS	Coding sequence	编码序列
Cef	Cefotaxime	头孢噻肟
Co-IP	Co-immunoprecipitation	免疫共沉淀
Ct	Cycle threshold	循环阈值
DMSO	Dimethyl sulfoxide	二甲基亚砷
DNA	Deoxyribonucleic acid	脱氧核糖核酸
DUF	Domain of unknown function	功能未知结构域
EDTA	Ethylenediaminetetraacetic acid	乙二胺四乙酸
FPKM	Fragments per kilobase of exon model per million mapped fragments	每百万片段的转录本千碱基数
gDNA	Genomic DNA	基因组 DNA
GRAVY	Grand average of hydropathicity	平均疏水性指数
GUS	$\beta$ -Glucuronidase	$\beta$ -葡萄糖醛酸苷酶
h	Hour	小时
His	Histidine	组氨酸
HRP	Horseradish peroxidase	辣根过氧化物酶
Hyg	Hygromycin B	潮霉素 B
IPTG	Isopropyl $\beta$ -D-1-thiogalactopyranoside	异丙基- $\beta$ -D-硫代半乳糖苷
Kan	Kanamycin	卡那霉素
KT	Kinetin	激动素
LCI	Luciferase Complementation Imaging	荧光素酶互补成像
Leu	Leucine	亮氨酸

LiAc	Lithium acetate	醋酸锂
Luc	Luciferase	荧光素酶
MeJA	Methyl jasmonate	茉莉酸甲酯
MES	2-(N-morpholino) ethanesulfonic acid	2-(N-吗啉基)乙磺酸
MgCl <sub>2</sub>	Magnesium chloride	氯化镁
min	Minute	分钟
Ms	Medicago sativa L.	紫花苜蓿
μL	Minutelitera	微升
NaCl	Sodium chloride	氯化钠
NAA	Naphthalene Acetic Acid	萘乙酸
OD	Optical density	光密度值
OE	Over expression	过表达
PAGE	Polyacrylamide gel electrophoresis	聚丙烯酰胺凝胶电泳
PBS	Phosphate-buffered saline	磷酸盐缓冲液
PCR	Polymerase chain reaction	聚合酶链式反应
PEG6000	Polyethylene glycol 6000	聚乙二醇 6000
PMSF	Phenylmethylsulfonyl fluoride	苯甲基磺酰氟
PVDF	Polyvinylidene fluoride	聚偏二氟乙烯
qRT-PCR	Quantitative real-time polymerase chain reaction	实时定量聚合酶链式反应
Rif	Rifampicin	利福平
RNA	Ribonucleic acid	核糖核酸
RNAi	RNA interference	RNA 干扰
SA	Salicylic acid	水杨酸
SD	Synthetic defined	合成限定培养基
SDS	Sodium dodecyl sulfate	十二烷基硫酸钠
sec	Second	秒
TAE	Tris aminomethane ethacid	Tris-乙酸
Tris	Tris(hydroxymethyl)aminomethane	三羟甲基氨基甲烷
Trp	Tryptophan	色氨酸
Ura	Uracil	尿嘧啶
WT	Wild type	野生型
X-gal	5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-D-galactopyranoside	5-溴-4-氯-3-吲哚-β-D-半乳糖苷

## 第 1 章 引言

### 1.1 盐渍土问题现状与修复措施

#### 1.1.1 土壤盐渍化现状

土壤盐渍化是指土壤中可溶性盐分累积或钠离子含量升高，导致土壤的结构劣化、pH 变化过程。该过程常发生于干旱及半干旱地区、农业灌溉区及滨海平原区域<sup>[1]</sup>。土壤中盐分过高，会让植物出现缺水状态：有水但难以吸收，导致生长变慢等。同时，Na<sup>+</sup>、Cl<sup>-</sup>等离子累积会扰乱植物离子平衡和代谢水平，导致叶片灼伤、黄化、产量下降等现象。盐分过多，还会使土壤板结、孔隙减少，进一步加速土壤退化。上述影响直接损害土壤健康，进而威胁粮食安全与民生基础。

当前，土壤盐渍化问题已对农业发展与环境健康构成威胁。土壤质量的恶化通常与管理措施、自然环境等多种因素相关：盐渍化现象受气候干旱、强蒸发等自然过程影响，也受人为活动影响。其中，不合理灌溉、排盐不足以及滥用肥料等，均可能破坏土壤水盐平衡，并进一步加速盐分在耕作层的累积<sup>[2]</sup>。根据 FAO 在 2024 年发布的近 50 年来首个盐渍土全球重大评估指出：全球已有近 14 亿公顷土地受到盐分影响，约占陆地面积的 10%，另有约 10 亿公顷土地正处于风险之中，并指出，在全球持续变暖的干旱化环境趋势下，受影响面积可能扩大到全球陆地面积的 24%至 32%。

在我国，盐渍化区域面积差异显著，其中西北地区如陕西、甘肃、宁夏、青海、新疆、内蒙古等地，盐渍化土壤面积在全国的占比逐年上升。西北地区的土地盐碱化与荒漠化过程密切相关，这些现象成为制约西部地区发展的重要因素<sup>[3]</sup>。以黑河流域中游为例，该区地势平缓，地下水埋深偏浅且地表径流排泄能力较弱，导致水盐迁移过程缓慢。与此同时，在强蒸发背景下，地下水及土壤水中的溶解盐不断向上运移，并在土壤表层持续富集，进而加剧土壤盐渍化<sup>[4]</sup>。除干旱区外，农业生产条件下的次生盐渍化问题同样值得关注。我国东北与华北地区的大棚生产方式，显著提高了蔬菜的供给能力，但因为大棚下的高强度连作，使土壤养分消耗过快，所以生产上往往依赖大量化肥投入<sup>[5-6]</sup>。由于对肥料使用的认知不足以及管理不当，易造成土壤氮、磷等养分在耕作层富集。同时因棚内缺少自然降雨淋洗，盐分难以下移排出，进而加剧土壤板结并加剧次生盐渍化现象<sup>[7]</sup>。我国新疆地区干旱、强蒸发与灌溉农业并存，使盐分在土壤与地下水循环系统中更容易发生积累，且新疆地域辽阔，所以盐碱土类型多样、成因复杂，国内研究中常

将其概括为“世界盐碱土博物馆”<sup>[8]</sup>。总体而言，应加强实地调查与长期监测，结合气候、地形及耕作方法差异，因地制宜的优化灌排、施肥制度与改良措施，以减缓土壤退化并为农业增产提供支撑。

### 1.1.2 盐渍土的修复

土壤盐渍化会显著抑制作物生长与产量，并破坏土壤结构、扰乱水盐与养分平衡，加速耕地质量退化<sup>[9]</sup>；同时，过量的盐离子在植物体内累积，可造成严重的离子毒害与代谢紊乱问题，进而削弱植物的光合作途径，影响生长发育<sup>[10]</sup>。近年来，国内外围绕盐渍化的成因、危害与治理技术已开展系统研究，取得了重要的进展。基于我国盐渍化现状，当前可采用物理、化学、生物、水利灌排等多种方式进行盐渍土治理。其中，通过提升植物对盐的耐受能力，或大规模种植适应性强的作物，可显著降低土壤中的盐分含量。研究表明，种植牧草不仅可以预防极端环境下的土壤风蚀现象<sup>[11]</sup>，还可以降低土壤盐分、提高土壤有机成分以及微生物含量等<sup>[12-13]</sup>。张晶等在河套灌区农牧交错区的田间试验表明：在暗管排水条件下，种植耐盐牧草如苜蓿、苏丹草、甜高粱，可显著降低0-20 cm 土层的土壤容重，并且提高土壤的脱盐率。其中，经过苜蓿种植的0-20 cm 土层，脱盐率可高达61.42%，明显高于裸地对照组。因此，在该研究中，种植苜蓿降低土壤全盐量的效果最优<sup>[14]</sup>。同时，在西北灌区盐渍土评估研究中，明确提出“种植苜蓿可改良盐渍土”，并指出随种植年限延长，土壤剖面盐分逐步下降，同时可促进土壤氮累积等<sup>[15]</sup>。在干旱/半干旱灌区，次生盐渍化常与地下水位相关。牧草作物高蒸腾、深根系消耗地下水补给，从而降低地下水位，间接削弱盐分上行与表层积盐<sup>[16]</sup>。土壤盐渍化治理关乎国家粮食安全，应推动多部门协同监测管控，形成系统的治理体系，最终实现盐渍土修复、土壤资源优化与生态环境保护的综合目标。

## 1.2 盐胁迫下植物的抗氧化防御机制

### 1.2.1 盐胁迫信号的感知

植物早期主要通过两条途径感应盐胁迫：一是因外界渗透势降低引发的渗透胁迫，该过程导致细胞失水、膨压降低并抑制植物生长；二是因盐离子积累带来的离子胁迫，其表现为Na<sup>+</sup>过量积累造成离子毒害，同时Na<sup>+</sup>竞争性抑制K<sup>+</sup>的吸收与运输，破坏离子稳态、干扰酶活性与代谢过程<sup>[17]</sup>。

植物对非生物胁迫产生应答过程中，钙离子（Ca<sup>2+</sup>）作为第二信使发挥核心作用<sup>[18]</sup>

(图 1-1)。当植物遭受干旱、盐胁迫或低温等逆境条件刺激时, 细胞内  $\text{Ca}^{2+}$  水平会迅速升高, 并呈现出时空动态变化模式。  $\text{Ca}^{2+}$  信号可被多种  $\text{Ca}^{2+}$  传感器如钙依赖性蛋白激酶、钙调神经磷酸酶 B 样蛋白、SOS3 样钙结合蛋白等识别, 并改变其空间构象, 触发下游信号的级联反应, 最终通过调控气孔开合、ROS 稳态以及抗逆基因表达, 提升植物对逆境的适应性<sup>[17,19]</sup>。研究表明, *OSCA1* 为细胞质膜上的  $\text{Ca}^{2+}$  通道组分, 可介导高渗刺激下的  $\text{Ca}^{2+}$  升高, 参与渗透感知与生长调控过程<sup>[20]</sup>。细胞表面 GIPC (glycosyl inositol phosphorylceramide) 鞘脂可作为单价阳离子感知元件, 该元件是当前最具代表性的  $\text{Na}^+$  感知元件之一, 研究表明,  $\text{Na}^+$  可直接结合质膜表面的 GIPC, 并影响膜去极化及  $\text{Ca}^{2+}$  内流过程, 从而响应盐胁迫<sup>[21]</sup>。与此同时, *AtANN1* 参与根表皮细胞中  $\text{NaCl}$  诱导的 ROS 调控, 导致  $\text{Ca}^{2+}$  内流。这些研究说明盐诱导的  $\text{Ca}^{2+}$  信号转递并非由单一通道完成, 而更可能由多个组分协同介导<sup>[22]</sup>。ROS 与  $\text{Ca}^{2+}$  之间还存在正反馈关系: RBOHD 介导的 ROS 爆发可推动  $\text{Ca}^{2+}$  传播, 而  $\text{H}_2\text{O}_2$  受体 HPCA1 则为 ROS- $\text{Ca}^{2+}$  耦联提供了受体<sup>[23]</sup>。受体样激酶 FERONIA (FER) 在盐胁迫条件下有助于维持细胞壁完整性, 并通过诱导  $\text{Ca}^{2+}$  的瞬时变化, 将细胞壁应激信号转导为胞内信号, 从而促进生长调控并增强植物耐盐能力<sup>[24]</sup>。BONZAI (BON) 作为  $\text{Ca}^{2+}$  响应型磷脂结合蛋白, 可调控  $\text{Ca}^{2+}$  信号转导、促进 ABA 积累、协调生长过程<sup>[25]</sup>, 进而介导植物对渗透胁迫的适应性。由于盐胁迫通常引发渗透失衡与离子紊乱<sup>[17,26]</sup>, 这些蛋白很可能在盐胁迫早期阶段共同参与信号整合与调控, 推动后续盐响应的调控过程。

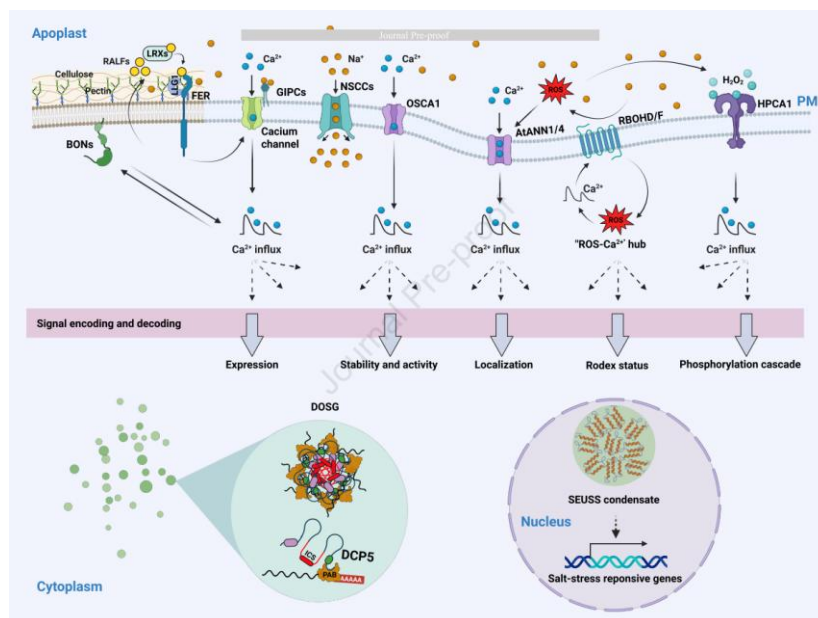


图 1-1 植物  $\text{Ca}^{2+}$  信号转导通路示意图 (Ma L., et al. 2025)

Figure 1-1 Schematic diagram of plant  $\text{Ca}^{2+}$  signaling pathway (Ma L. et al., 2025)

## 1.2.2 植物抗氧化防御系统

植物在逆境胁迫下会因离子泄露而产生大量活性氧（ROS），该物质累积会引发脂质、蛋白与DNA的氧化损伤，直接危害植物健康。同时，ROS又可作为参与植物代谢的关键信号分子响应抗氧化等调控过程<sup>[27]</sup>。抗氧化系统的核心功能并非为完全清除植物体内的ROS成分，而是维持ROS积累-清除-再生的过程<sup>[28]</sup>。

植物抗氧化防御系统，通常由非酶类抗氧化物（如抗坏血酸Asc、还原型谷胱甘肽GSH等）与抗氧化物酶（如过氧化物酶POD、超氧化物歧化酶SOD、过氧化氢酶CAT、抗坏血酸过氧化物酶APX等）参与调控<sup>[29]</sup>。不同组分并非孤立发挥作用，而是通过相互耦联共同维持细胞内ROS稳态。其中，AsA-GSH循环是植物处理H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>和维持还原力再生的重要核心模块<sup>[30]</sup>。除此以外，抗氧化还原系统还呈现出显著的亚细胞区室化特征，叶绿体、线粒体与过氧化物酶体等细胞器既是ROS的重要来源，也是氧化还原反应的重要发生场所；不同区室内抗氧化物质的分布差异，使ROS清除、信号传递与代谢调控具有空间特异性<sup>[27]</sup>。

在酶促反应方面，除APX、CAT等外，过氧化还原酶体系（peroxiredoxins, PRXs）与植物谷胱甘肽过氧化物酶（glutathione peroxidase, GPXs）同样构成H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>清除的重要分支。植物氧化还原调控网络中，硫氧还蛋白（thioredoxin, TRX）与谷氧还蛋白（glutaredoxin, GRX）呈现枢纽作用<sup>[31]</sup>。叶绿体中，TRX系统可在光照变化与胁迫条件下调节叶绿体代谢并参与H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>稳态调节<sup>[32]</sup>。同时，GRX体系则以GSH为电子供体参与蛋白巯基与二硫键的调控，在蛋白氧化损伤修复与稳态维持中发挥关键作用<sup>[33]</sup>。

## 1.2.3 GSH-AsA 循环与 GRX/TRX 氧化还原系统

盐胁迫会打破细胞内活性氧（reactive oxygen species, ROS）平衡，导致H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>、O<sub>2</sub><sup>-</sup>等氧化分子在叶绿体、线粒体等区室积累，并进一步引发膜脂过氧化、蛋白氧化修饰及代谢失衡。在这一背景下，植物抗氧化调控由小分子还原剂、再生酶系统及蛋白硫醇调控网络共同构成稳态调控系统<sup>[34]</sup>。其中，抗坏血酸-谷胱甘肽（ascorbate-glutathione, AsA-GSH）循环与谷胱甘肽氧化还原蛋白/硫氧还蛋白（glutaredoxin/thioredoxin, GRX/TRX）系统被认为是植物细胞最核心的硫醇依赖型氧化还原模块之一：前者直接承担过氧化物清除和还原力再生功能，后者则负责把细胞氧化还原状态转译为蛋白功能变化与信号输出<sup>[35-36]</sup>。

其中，AsA-GSH循环被认为是细胞氧化还原代谢的“枢纽”（图1-2），该循环以抗坏血酸过氧化物酶（APX）为起点，利用AsA将H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>还原为H<sub>2</sub>O，同时使AsA氧化为单脱氢抗坏血酸（MDHA）。MDHA可在单脱氢抗坏血酸还原酶（MDHAR）作用下